

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平11-506934

(43)公表日 平成11年(1999)6月22日

(51) Int.Cl.
C 13 K 1/02
C 01 B 39/00
C 12 P 19/00

識別記号

F I
C 13 K 1/02
C 01 B 39/00
C 12 P 19/00

(21)出願番号 特願平9-501223
(36) (22)出願日 平成8年(1996)6月3日
(35)翻訳文提出日 平成9年(1997)12月4日
(36)国際出願番号 PCT/US96/08719
(37)国際公開番号 WO96/40970
(37)国際公開日 平成8年(1996)12月19日
(31)優先権主張番号 08/483, 454
(32)優先日 1995年6月7日
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 08/483, 455
(32)優先日 1995年6月7日
(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 アーケノール, インコーポレイテッド
アメリカ合衆国, 92653 カリフォルニア,
ラグナ ヒルズ, アベニーダ デ ラ カ
ーロータ 23046番地, スイート 400
(72)発明者 ファロン, ウィリアム, エー.
アメリカ合衆国, 92714 カリフォルニア,
アーバイン, ピカソ コート 14112番地
(72)発明者 クゼンス, ジョン, イー.
アメリカ合衆国, 92705 カリフォルニア,
サンタ アナ, ウッドロウ 11871番地
(74)代理人 弁理士 遠山 勉 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 強酸加水分解法

(57)【要約】

セルロース及びヘミセルロースを含むバイオマスの濃酸加水分解を使用した糖の製造のための経済的に使用し続けられる方法を開示する。バイオマス中のセルロース及びヘミセルロースを最初に脱結晶化し、その後加水分解して糖及び酸の両方を含む加水分解物を生成する。バイオマス中に存在するシリカ及びケイ酸塩はその後さらに処理するために除去することができ、そのような処理は、固形物を金属水酸化物溶液で処理して抽出物を生成し、抽出物のpHを低下させてケイ酸を生成し、ケイ酸を抽出物から除去することを含む。残った固形物はその後必要であれば第二の脱結晶化、及び第二の加水分解にかけ、糖収率を最適化する。

【特許請求の範囲】

1. セルロース及びヘミセルロースを含む物質から糖を製造する方法であつて、

物質を約25～90重量%の酸の溶液と混合し、これにより少なくとも部分的に物質を脱結晶化し、固体物質と液体部分とを含むゲルを形成し、

前記ゲルを約20～30重量%の酸濃度に希釈し、ゲルを80～100℃の温度に加熱し、これにより前記物質中に含まれるセルロース及びヘミセルロースを部分的に加水分解し、

前記液体部分を前記固体物質から分離し、これにより糖及び酸を含む第一の液体を得、

分離された固体物質を、ゲルの酸濃度が約20～30重量%の酸になるよう約25～90%の酸の溶液と混合し、混合物を約80℃～100℃の温度に加熱し、これにより分離された固体物質中に残っているセルロース及びヘミセルロースをさらに加水分解し、第二の固体物質と第二の液体部分を形成し、

前記第二の液体部分を前記第二の固体物質から分離し、これにより糖及び酸を含む第二の液体を得、

第一及び第二の液体を合わせ、そして

合わせた第一及び第二の液体中の酸から糖を分離して合計で少なくとも約15重量%の糖を含み、3重量%を超える酸を含まない第三の液体を生成することを含む前記方法。

2. セルロース及びヘミセルロースを含む物質を洗浄することをさらに含む請求項1の方法。

3. セルロース及びヘミセルロースを含む物質を乾燥することをさらに含む請求項1の方法。

4. 前記物質を約10%の水分含量に乾燥する請求項3の方法。

5. セルロース及びヘミセルロースを含む物質を粒子に細化することをさらに含む請求項1の方法。

6. 物質が約0.3gm/ccを超える密度を有し、前記粒子が約0.075mm～約7

mmのサイズを有する請求項 5 の方法。

7. 粒子が約 5 mmの平均サイズを有する請求項 6 の方法。

8. 物質が約 0.3 gm/cc未満の密度を有し、前記粒子が約 0.075 mm～約 25 mmのサイズを有する請求項 5 の方法。

9. 粒子が約 15 mmの平均サイズを有する請求項 8 の方法。

10. 細化工程が、粉碎、細断及びハンマーミリングからなる群から選択される方法を含む請求項 5 の方法。

11. 酸が硫酸である請求項 1 の方法。

12. 酸が塩酸、フッ化水素酸及びリン酸からなる群から選択される請求項 1 の方法。

13. 加熱を 40～480 分間行う請求項 1 の方法。

14. 加熱を 100°C の温度で、40～110 分間行う請求項 1 の方法。

15. 加熱を 90°C の温度で、80～220 分間行う請求項 1 の方法。

16. 加熱を 80°C の温度で、160～480 分間行う請求項 1 の方法。

17. 加水分解を大気圧で行う請求項 1 の方法。

18. 加水分解の間、ゲルと酸を約 10～30 rpm の速度で混合する請求項 1 の方法。

19. 脱結晶化を行うために使用する酸が約 70～約 77 重量% の濃度である請求項 1 の方法。

20. 酸溶液を加えて少なくとも約 1:1 の純粹な酸とセルロース及びヘミセルロース物質との比を得る請求項 1 の方法。

21. 酸溶液を加えて約 1.25:1 の純粹な酸とセルロース及びヘミセルロース物質との比を得る請求項 1 の方法。

22. 物質の脱結晶化を 80°C 未満の温度で行う請求項 1 の方法。

23. 物質の脱結晶化を 60°C 未満の温度で行う請求項 1 の方法。

24. 物質の脱結晶化を約 35～40°C の温度で行う請求項 1 の方法。

25. 脱結晶化段階がさらに、減圧を使用して脱結晶化段階にリサイクルされる水を除去することにより熱を除去することを含む請求項 1 の方法。

26. 原材料が約 50%～約 85% のセルロース及びヘミセルロースを含む請求項

1 の 方法。

27. 原材料が少なくとも5%のリグニンを含む請求項1の方法。
28. 固体物質からの液体部分の分離をゲルをプレスすることによって行う請求項1の方法。
29. 第二の固体物質をペレット化することをさらに含む請求項1の方法。
30. 酸からの糖の分離の前に第一及び第二の液体部分を合わせることをさらに含む請求項1の方法。
31. 糖が強酸樹脂上に吸着される樹脂分離ユニットを使用して分離を行う請求項1の方法。
32. 樹脂分離ユニットが架橋ポリスチレンカチオン交換樹脂床である請求項31の方法。
33. 樹脂をジビニルベンゼンで架橋し、硫酸で処理することにより強酸樹脂を生成する請求項31の方法。
34. ジビニルベンゼンが約6%～約8%の濃度である請求項33の方法。
35. ビニルベンジルクロライドをジビニルベンゼンと重合することにより樹脂を形成し、亜硫酸ナトリウムで処理することにより強酸樹脂を生成する請求項31の方法。
36. ジビニルベンゼンが約6%～約8%の濃度である請求項35の方法。
37. 樹脂が約200～約500 μ mの直徑を有するビーズの形態である請求項31の方法。
38. 液体を約2～約5メートル毎時の平均線流速で樹脂床中に流す請求項32の方法。
39. 樹脂床を約40～約60°Cの温度に加熱することをさらに含む請求項32の方法。
40. 樹脂床が約0.6g/ml～約0.9g/mlのタップ床密度を有する請求項32の方法。
41. 樹脂が少なくとも約2meq/gの強酸容量を有する請求項31の方法。
42. 分離段階の後に再利用のために酸を濃縮することをさらに含む請求項1の方法。

43. 物質と酸との混合を、ポリテトラフルオロエチレン、ポリフッ化ビニリデン、クロロトリフルオロエチレンとエチレンのコポリマー、高密度ポリエチレン、ポリ塩化ビニル及びポリプロピレンからなる群から選択される物質により内張りされた容器中で行う請求項1の方法。

44. 脱結晶化を150～400mmHgの圧力で行う請求項1の方法。

45. 最初の混合段階が、前記物質の一部を反応容器に入れ、酸を加え、徐々に物質の残りを加えることをさらに含む請求項1の方法。

46. 混合段階を多数のプレードを有するミキサーを使用して行う請求項1の方法。

47. 発酵用の糖を準備し、その糖を発酵させて醣酵産物を形成する請求項1の方法。

48. 酵酵段階が、

糖のpHを調整して残っている酸を全て中和するとともに金属イオンを除去し、

微生物の増殖を可能とするために栄養素を加え、

約1～2週間ペントース溶液で増殖させた *Candida kefyr*、*Candida shehatae*、*Candida lignosa*、*Candida insectosa*、*Pichia stipitis*、*Saccharomyces cerevisiae*の呼吸能欠損株、*Hansenula anomala*、*Hansenula jadinii*、*Hansenula fabianii*及び*Pachysolen tannophilus*からなる群から選択される酵母と糖を混合し、

3～5日発酵工程を進行させ、

冷却凝縮カラムにより二酸化炭素を再循環させて連続的に揮発性の発酵産物を除去し、

凝縮カラムから発酵産物を回収し、

酵母を残りの発酵産物から分離し、

残留発酵産物を蒸留することを含む請求項47の方法。

49. pHが約11に達するまで塩基を加え、その後酸で逆滴定して約4.5のpHに戻すことにより糖のpHを調節する請求項48の方法。

50. 固体物質を金属水酸化物溶液で処理して抽出物を生成し、

抽出物のpHを約pH10に低下させてケイ酸を生成し、
抽出物を濾過してケイ酸を除去することをさらに含む請求項1の方法。

51. 金属水酸化物溶液が水酸化ナトリウムの溶液である請求項50の方法。

52. pHの低下を硫酸、塩酸、フッ化水素酸及びリン酸からなる群から選択される酸で行う請求項50の方法。

53. ケイ酸を酸化剤で処理してケイ酸の色を減少させることをさらに含む請求項50の方法。

54. 酸化剤が、次亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、オゾン、塩素及び二酸化塩素からなる群から選択される請求項50の方法。

55. 濾過の後に残る抽出物を処分する前に中和することをさらに含む請求項50の方法。

56. ケイ酸からシリカゲル、ケイ酸、及びケイ酸ナトリウムを生成することをさらに含む請求項50の方法。

57. 金属水酸化物溶液が水酸化ナトリウムの溶液であり、pHの低下を硫酸で行い、濾過の後に残った抽出物に石灰を加えてケイ酸を除去して硫酸カルシウムと水酸化ナトリウムを生成し、水酸化ナトリウムを処理段階で再利用することをさらに含む請求項50の方法。

58. セルロース及びヘミセルロースを含む物質の酸加水分解から得た固体物からシリカまたはケイ酸塩を除去する方法であって、
固体物を金属水酸化物溶液で処理して抽出物を生成し、
抽出物のpHを低下させてケイ酸を生成し、
その抽出物からケイ酸を除去することを含む前記方法。

59. 処理段階が水酸化ナトリウムの溶液で処理することを含む請求項58の方法。

60. 水酸化ナトリウムが約5～約10%の濃度である請求項59の方法。

61. 処理段階を約60～80℃の温度で行う請求項58の方法。

62. 処理段階を約60～90分行う請求項58の方法。

63. ケイ酸の除去を、抽出物を濾過することによって行う請求項58の方法。

64. pHの低下を硫酸、塩酸、フッ化水素酸、及びリン酸からなる群から選

択された酸で行う請求項58の方法。

65. ケイ酸を酸化剤で処理してケイ酸の色を減少させることをさらに含む請求項58の方法。

66. 酸化剤が、次亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、オゾン、塩素及び二酸化塩素からなる群から選択される請求項65の方法。

67. 濾過の後に残る抽出物を中和することをさらに含む請求項58の方法。

68. ケイ酸からシリカゲル、ケイ酸、及びケイ酸ナトリウムを生成することをさらに含む請求項58の方法。

69. 金属水酸化物溶液が水酸化ナトリウムの溶液であり、pHの低下を硫酸で行い、濾過の後に残った抽出物に石灰を加えてケイ酸を除去して硫酸カルシウムと水酸化ナトリウムを生成することをさらに含む請求項58の方法。

70. ケイ酸をアルミニウム塩と混合し、混合物を乾燥してゼオライトを生成することをさらに含む請求項58の方法。

71. 生成されたゼオライトの窒素吸着に対するBrunauer-Emmet-Teller (BET) 表面積が少なくとも $300\text{m}^2/\text{g}$ である請求項70の方法。

72. 少なくとも $300\text{m}^2/\text{g}$ の窒素吸着に対するBrunauer-Emmet-Teller (BET) 表面積を有するゼオライト。

【発明の詳細な説明】

強酸加水分解法

発明の分野

本発明はバイオマスを加水分解する方法に係わり、より具体的には、セルロース及びヘミセルロースを含む物質の濃酸(concentrated acid)による加水分解により糖を製造し、加水分解工程から得られた固体物からシリカ及びケイ酸塩を除去する方法に関する。

発明の背景

セルロースは全植物バイオマスの主要な部分を構成する。全てのセルロースのソースは植物の構造組織である。これはヘミセルロース及びリグニンと密接に会合して存在し、それらが合わさって植物繊維細胞の主成分を構成する。セルロースは1,4位置を介して結合した β グルコシド残基の長鎖からなる。これらの結合によりセルロースは高い結晶化度を有し、酵素や酸触媒によつては容易には侵されない。ヘミセルロースは容易に加水分解される非結晶質のヘテロポリマーである。リグニンは芳香族の三次元ポリマーであり、植物繊維細胞内でセルロースとヘミセルロースとの間に散在する。

耕作地と草原で生成されるおよそ2400万トンのバイオマスの4分の3が廃棄されると見積もられている。燃料、化学物質及びその他の有用な製品の代替的なソースを開発のためにそのような廃棄物質の利用が長く望まれてきた。しかし、セルロースを加水分解しようとする試みは、糖を高い収率で製造するための経済的に使用に堪え得る方法を提供することにおいてまだに成功していない。これは主としてセルロースの結晶構造とその中のリグニンの存在によるものである。

これまでに報告されたセルロースを加水分解する方法としては、解重合用の生物学的及び非生物学的手段を使用するものがある。生物学的方法はセルラーゼ酵素を使用する。セルロースから糖を生産するための公知の非生物学的方法の最も古くかつ最善のものは酸加水分解を使用するものである。この方法において最も

一般に使用される酸は硫酸である。一般に硫酸加水分解は、希酸加水分解あるいは濃酸加水分解に分類され得る。

希酸法は、一般に0.5%～15%の硫酸を使用してセルロース物質を加水分解する。さらに、加水分解を行うためには90～600°Cの範囲の温度と、800psiまでの圧力が必要である。高温では糖が分解してフルフラールやその他の望ましくない副産物を形成する。得られるグルコース収量は一般的に低く、50%未満である。従って希酸法は、セルロース物質から高収率及び低成本で糖を得ることにおいて成功していなかった。

濃酸法はいくらか成功を収め、糖のより高い収率を実現している。この方法は典型的には加水分解を行うのに60%～90%の硫酸を使用する。この方法は90%を上回る糖収率を得ることに成功しているが、濃硫酸と後のその回収の高いコスト、濃硫酸の取り扱いにくさ、高温における設備の耐久性の必要性のために過去においては商業的には実現されなかった。さらに、より高い酸濃度を使用すると酸を濃縮するのにより多くのエネルギーが必要であり、これはこの方法を経済的に不利なものとする。

しかしより最近になって濃酸加水分解法がまた研究の対象となっている(アメリカ農業工学会[Conference of the American Society of Agricultural Engineers]、1992年12月14-15日、で示されたL.T. Fan, M.M. Gharpuray and Y.H. Lee, Cellulose Hydrolysis, p. 170-172, 1992及びJ.D. Broder, J.W. Barrier and G.R. Lightsey, "Conversion of Cotton Trash and Other Residues to Liquid Fuel" を参照)。そのような方法は一般に以下の段階：(1)ヘミセルロース部分を加水分解する予備加水分解、(2)セルロースを加水分解する主加水分解、及び(3)段階(2)で形成されたオリゴ糖からグルコースを形成する後加水分解からなる。最初の段階では、硫酸をバイオマスに添加し、その後それを少なくとも100°Cまで加熱してヘミセルロースに分解する。予備加水分解段階の結果得られるのは実質的に全てのC₆糖とC₅糖も含む溶液である。従ってC₅糖流が利用されないとこれらのC₅糖類は回収されず、糖収量が低下する。予備加水分解段階によって生産された糖流を除去した後、濃酸を加えてセルロースの結晶格子を破壊してグルコースを形成する。生成された糖はその後アルコ

ルに発酵させる。しかしそのような方法を商業化するためには、段階を単純化し

、エネルギー消費を低減し、消費された酸のリサイクルの困難性を解消しなければならないと考えられてきた。

公知の酸加水分解法の商業化が直面する別の問題として、消費されあるいは使用された酸が中和される場合の多量の石膏の生成が挙げられる。また工程から生じる低い糖濃度により発酵を進行させる前に濃縮を必要とする。加水分解を150°Cより高い温度で行う場合は、ペントースの分解からフルフラールのような化合物が生成する。これらの化合物は発酵を阻害し、有毒なものもある。

これらの困難に加えて、濃酸加水分解によって生成された糖類の発酵が別の問題を起こすことが認められている。セルロース及びヘミセルロースの加水分解によりC₅及びC₆糖が生成される。ヘキソース糖は容易に醜酵することが知られているが、ペントース糖は一般に発酵させるのがより難しい。従って得られる糖類を最初に分離しなければならないが、それは複雑な分離法を使用することが多く、その後ヘキソースかペントース糖のいずれかのみを発酵することが知られた種々の微生物によって発酵させるものである。

また、これまでの酸加水分解法は、高い量のシリカを含むバイオマスをどのように処理するかについては考慮していなかった。シリカの処分は大きな環境的及び経済的負担を課すものである。燃焼によってエネルギーを生成するためにバイオマスを使用する用途においては、高いシリカ含量は高いスラグ生成傾向と、バイオマスを燃焼させたときに生成される多量の灰を取り扱うことによる問題を意味する。しかし、ケイ素化合物は商業上重要であり、農業廃棄物からシリカを回収することはますます重要になってきている(A. Karera, S. Nargis, S. Patel and M. Patel, "Silicon Based Materials from Rice Husk", Journal of Scientific & Industrial Research, Vol. 45, 1986, pp. 441-448を参照)。バイオマスを水酸化ナトリウムで処理するとセルロースとヘミセルロースが溶解され、それらをリグニンから分離できることは周知である。しかし、小さい鎖のセルロース物質が除去の過程でシリカ製品を汚染することが多く、糖の收率を下げてしまう。さらに、シリカの除去は濾過により行われるが、これは濾過するのが非常に難しい粘稠なゲルの生成によって阻害される。

このように、セルロース及びヘミセルロースを含むバイオマスから糖類を製造するための、経済的に使用し続けられる、環境的に安全な方法が緊急に必要とされている。

発明の概要

1つの態様においては、本発明はセルロース及びヘミセルロースを含む物質から糖類を製造する方法を提供する。前記物質を約25～90重量%の酸の溶液と混合して該物質を少なくとも部分的に脱結晶化(decrystallize)し、固体物質と液体部分とを含むゲルを形成する。ゲルを約20%～約30重量%までの酸濃度に希釀し、約80°C～100°Cの間の温度に加熱する。これにより出発物質に含まれるセルロースとヘミセルロースが部分的に加水分解される。液体部分と固体物質とを分離し、これにより糖と酸を含む第一の液体を得る。ゲルの酸濃度が約20～30重量%になるように分離された固体物質を約25～90%の酸の溶液と混合し、約80°C～100°Cの間の温度に加熱し、これにより分離された固体物質中に残っているセルロースとヘミセルロースをさらに加水分解し、第二の固体物質と第二の液体部分を形成する。第二の液体部分を第二の固体物質から分離し、それにより糖及び酸を含む第二の液体を得る。第一及び第二の液体を合わせ、合わせた第一及び第二の液体中の酸から糖を分離して少なくとも合計で約15重量%の糖を含み、3重量%を超える酸を含まない第三の液体を生成する。

好ましくは、原材料を処理する前に洗浄し、乾燥して約10%の水分含量にすることができる。また物質は粒子に細化することもできる。原材料が約0.3gm/ccを超える密度を有する場合は、粒子は約0.075mm～約7mmのサイズを有する。好ましくは、粒子は約5mmの平均サイズを有する。原材料が約0.3gm/cc未満の密度を有する場合は、粒子は約0.075mm～約25mmのサイズを有する。好ましくは、粒子は約15mmの平均サイズを有する。細化段階は、粉碎、細断、ハンマーミリング等により行うことができる。

使用する酸は、塩酸、フッ化水素酸及びリン酸から選択することができる。好ましくは使用する酸は硫酸である。加熱段階は好ましくは40～480分行う。具体的には、加熱は100°Cの温度で40～110分間、あるいは90°Cの温度で80～220分

間、あるいは80°Cの温度で160~480分間行うことができる。加水分解は好ましくは大気圧で行う。

ゲル及び酸は好ましくは、加水分解の間、約10~30rpmの速度で混合する。脱結晶化に使用する酸は、好ましくは約70重量%~約77重量%であり、酸溶液を加えて少なくとも約1:1、より好ましくは約1.25:1の純粹な酸とセルロース及びヘミセルロース物質との比を得る。脱結晶化は、好ましくは80°C未満、より好ましくは60°C未満、さらに好ましくは約35~40°Cの間の温度での温度で行う。脱結晶化段階はさらに、減圧を使用して脱結晶化段階にリサイクルされる水を除去することにより熱を除去することを含むことができる。

本発明の方法は、好ましくは約50%~約85%のセルロースとヘミセルロース、及び少なくとも5%のリグニンを含む原材料を使用して行う。固体物質からの液体部分の分離は、好ましくはゲルをプレスすることによって行う。

第二の固体物質はペレット化してその後の使用を容易にすることができる。

好ましい態様においては、酸からの糖の分離の前に第一及び第二の液体部分を合わせる。分離は樹脂分離ユニットを使用して行い、糖を強酸樹脂上に吸着させる。好ましくは、樹脂分離ユニットは架橋ポリスチレンカチオン交換樹脂床であり、樹脂は約6%~約8%の濃度のジビニルベンゼンで架橋され、硫酸で処理して強酸樹脂を生成したものである。あるいは、樹脂は濃度6%~約8%のジビニルベンゼンでビニルベンジルクロリドを重合させることによって形成され、亜硫酸ナトリウムで処理して強酸樹脂を生成する。樹脂は、好ましくは約200~約500マイクロメートルの直径を有するビーズの形態であり、液体は好ましくは約2~約5メートル毎時の平均線流速で樹脂床内を流れる。樹脂床は約40~約60°Cの温度に加熱することができ、好ましくは約0.6g/ml~約0.9g/mlのタップ床密度(tapped bed density)を有し、少なくとも約2meq/gの強酸容量を有する。

酸は、好ましくは再利用のために分離段階の後に濃縮される。

本発明の方法のもう一つの好ましい態様においては、物質と酸との混合は、ポリテトラフルオロエチレン、ポリフッ化ビニリデン、クロロトリフルオロエチレンとエチレンのコポリマー、高密度ポリエチレン、ポリ塩化ビニル及びポリプロピレンからなる群から選択される物質で内張りされた容器中で行う。脱結晶化は

好ましくは150～400mmHgの圧力で行う。最初の混合段階は、好ましくは前記物質の一部を反応容器中に置き、酸を加え、徐々に残りの物質を加えることをさらに含む。混合段階は、好ましくは多数のブレードを有するミキサーを使用して行う。

もう一つの好ましい態様においては、本発明の方法はさらに、発酵のための糖を準備し、糖を発酵させて発酵産物を生成することを含む。発酵段階は、糖のpHを調節して残留する酸を全て中和するとともに金属イオンを除去し、栄養素を添加して微生物を増殖させ、*Candida kefyr*、*Candida shehatae*、*Candida lignosha*、*Candida insectosa*、*Pichia stipitis*、*Saccharomyces cerevisiae*の呼吸能欠損株、*Hansenula anomala*、*Hansenula jadinii*、*Hansenula fabianii*及び*Pachysolen tannophilus*からなる群から選択される、約1～2週間ペントース溶液で増殖させた酵母と糖を混合し、3～5日発酵工程を進行させ、冷却凝縮カラムにより二酸化炭素を再循環させて連続的に揮発性の発酵産物を除去し、凝縮カラムから発酵産物を回収し、酵母を残りの発酵産物から分離し、残留発酵産物を蒸留することを含む。一つの態様においては、pHが約11に達するまで塩基を加え、その後酸で逆滴定(back titrate)して約4.5のpHに戻すことにより糖のpHを調節する。

また別の好ましい態様においては、本発明の方法は好ましくはさらに固体物質を金属水酸化物溶液で処理して抽出物を生成し、抽出物のpHを約pH10に低下させてケイ酸を生成し、抽出物を濾過してケイ酸を除去することを含む。金属水酸化物溶液は、好ましくはNaOHの溶液である。pHの低下は例えば硫酸、塩酸、フッ化水素酸、リン酸等の酸で行う。

ケイ酸は酸化剤で処理してケイ酸の色を減少させることができる。酸化剤は、次亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、オゾン、塩素及び二酸化塩素から選択される。濾過の後に残る抽出物は好ましくは処分する前に中和する。ケイ酸は、好ましくはシリカゲル、ケイ酸及びケイ酸ナトリウムを生成するように処理される。

好ましい態様においては、金属水酸化物溶液は水酸化ナトリウムの溶液であり、pHの低下は硫酸で行い、濾過した後に残った抽出物に石灰を加えてケイ酸を除

去し、硫酸カルシウムと水酸化ナトリウムを生成する。水酸化ナトリウムはその後処理段階で再利用する。

本発明のもう一つの形態によれば、セルロースとヘミセルロースを含む物質の酸加水分解から得られる固体物からシリカあるいはケイ酸塩を除去する方法が提供される。該方法は、固体物を金属水酸化物溶液で処理して抽出物を生成し、抽出物のpHを低下させてケイ酸を生成し、その抽出物からケイ酸を除去することを含む。金属水酸化物溶液は好ましくは水酸化ナトリウムの約5～10%の濃度の溶液である。

処理段階は、好ましくは約60～80℃の温度で、約60～90分行う。ケイ酸の除去は、好ましく前記抽出物を濾過することによって行う。

好ましい態様においては、pHの低下は硫酸、塩酸、フッ化水素酸、及びリン酸から選択された酸で行う。ケイ酸は好ましくは酸化剤で処理してケイ酸の色を減少させる。酸化剤は、次亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、オゾン、塩素及び二酸化塩素から選択される。濾過の後に残る抽出物は好ましくは中和する。好ましい態様においては、金属水酸化物溶液は水酸化ナトリウムの溶液であり、pHの低下は硫酸で行い、濾過の後に残った抽出物に石灰を加えてケイ酸を除去し、硫酸カルシウムと水酸化ナトリウムを生成する。

さらに別の好ましい態様においては、本発明の方法は、シリカゲル、ケイ酸及びケイ酸ナトリウムをケイ酸から生成することをさらに含む。ケイ酸をアルミニウム塩と混合し、乾燥してゼオライトを生成することができる。

また別の好ましい態様においては、少なくとも $300\text{m}^2/\text{g}$ の窒素吸着に対するBrunauer-Emmet-Teller(BET)表面積を有するゼオライトが製造される。

本発明のさらに別の態様は、以下の本発明の説明を参照することにより当業者に明らかとなるであろう。

図面の簡単な説明

図1は、脱結晶化と加水分解段階を示す、本発明の方法の概略図である。

図2は、分離、発酵及び酸再濃縮の段階を示す、本発明の方法の概略図である。

。

図3は、シリカ処理段階を示す、本発明の方法の概略図である。

発明の詳細な説明

序

本発明は、硫酸、塩酸、フッ化水素酸、あるいはリン酸のような濃酸を使用してセルロース及びヘミセルロースを含むバイオマスから糖を製造する改良された方法を提供する。この方法から製造される糖は、動物あるいは人間の食品として、あるいは糖エステルのような糖誘導体を製造する原材料化学物質として使用でき、またエタノールもしくはブタノール、プロパノール、アセトン、酢酸エチル及びその他の多くの化学物質のような生成物に発酵させるための原材料として使用でき、これらのためには特異的な代謝経路をたどる特異的な微生物を使用することができる。

本発明の方法は、生成される廃棄物及び廃水を減らす、バイオマスから糖を製造する手段を提供する。該方法は、全ての水性流を再利用し、全ての固形物を販売可能あるいは有用な産物に変換するように設計される。使用される酸の多くはリサイクルするために回収される。バイオマスがシリカを高いレベルで含む場合は、本方法によりシリカゲル、ケイ酸ナトリウム、ケイ酸カリウム、ゼオライト、あるいはその他の副産物を生産することができる。発酵を含む本方法の部分においては、C₅及びC₆糖の両方の発酵を天然の微生物を使用して同時に行うことができる。さらに、バイオマスの加水分解から糖が高収率で得られ、発酵の前に糖流を濃縮する必要がない。

効率と経済的実施可能性に寄与する本発明のその他の特徴としては、大気圧と比較的低い温度を使用することが挙げられる。本方法は、フルフラール及び有毒で発酵を阻害する類似した望ましくない副産物を生産しない。本発明の方法は、タンタル鋼のような新型の高価な製造材料の使用を必要としない。

以下でより詳細に説明するように、本発明の方法は、農業廃棄物の加水分解から有用な化学物質を製造し、同時に廃水あるいは廃棄物を殆どあるいはまったく生成しない、効率的でコスト効果の高い手段を提供するものである。

以下の実施例は本発明の方法を例示するものである。

脱結晶化

本発明の方法に使用する原材料は、セルロース及びヘミセルロースの含量が少なくとも65%、より好ましくは約75%になるように混合したものである。本方法における任意の最初の段階として、バイオマスを洗浄しておおよその泥及び汚染物を除去することができる。図1において示すように、例として図全体において使用されるバイオマスである稲藁1を水2で洗浄する。多く場合、バイオマスの洗浄は必要でなく、大部分の「泥」（粘土、砂、岩の小さいかけら）は変化しないまま工程を通過し、最終的にリグニンケークに入るからである。本発明の方法は、その高いケイ酸含量のためにその他の材料よりも処理しにくい稲藁のような種々の原材料を使用することができるので有利である。しかし、本発明の原理はいかなる特定のバイオマスの種類にも限定されず、広範な物質に適用することを意図するものであることを明記しておく。稲藁は単に例示する性質のものである。

洗浄が終了した後、使用した水は沈降池4へ移され、泥あるいは他の沈降物を底6に回収し、その後水は次の分の稲藁を処理の前に洗浄するのに再使用5される。

稲藁を清浄にした後、それを任意に好ましくは約10%の含水量に乾燥することができる8。乾燥後、材料を粒子に粉碎する7。密度の高い材料、即ち約0.3gm/ccを超える密度を有する木材、稲藁のような材料については、粒子は約0.075mm～7mmのサイズとする。好ましくはそのような粒子は3mm～7mmの範囲のサイズを有し、平均で5mmのサイズを有する。約0.3gm/cc未満の密度を有する材料、例えば紙のような材料については、粒子サイズは約25mmまで大きくなってもよく、15mmの平均サイズが好ましい。いくつかの材料については、乾燥と粉碎の段階の順序を逆にする点に留意する必要がある。即ち、材料をハイドロパルバーのような装置を使用して湿润粉碎した後、乾燥してもよい。

これで稲藁は、脱結晶化段階に使用できる。本発明の方法においては、セルロース及び／またはヘミセルロースを含む原材料をまず25%～90%の濃度の濃酸9と混合し、脱結晶化を行う。好ましくは、使用する酸の濃度は70%～77%の間である。好ましくは、使用する酸は硫酸であるが、塩酸、フッ化水素酸、リン酸等のその他の酸も考えられる。使用する濃酸による反応チャンバーの金属侵食の発

生を減らすため、バイオマスのいくらかを最初に反応器内に置き、その後酸溶液、その後残りのバイオマスを徐々に添加する。さらに反応器は好ましくはポリテトラフルオロエチレン (PTFE、商業的にはTEFLONとして知られている)、ポリフッ化ビニリデン (PVDF、商業的にはKYNARとして知られている)、クロロトリフルオロエチレン (CTFE) とエチレンのコポリマー (商業上HALARとして知られている) の薄層により内張りする。また、高密度ポリエチレン、ポリ塩化ビニル及びポリプロピレンも使用することができる。

酸を加えて少なくとも1:1の純粹な酸重量とセルロース及びヘミセルロース物質重量との比を得る。好ましくは、達成する比は1.25:1である。酸のバイオマスへの添加により粘稠なゲル10が形成され、これは150万～200万cpの粘度を有しており、加水分解の前に完全に混合する。この原材料の酸との混合によりセルロース及びヘミセルロース鎖の間の結合が破壊され、長い鎖のセルロースが加水分解を受け得るので有利である。

脱結晶化は、温度が80°Cを超えないように好ましくは60～80°Cの範囲で行い、より好ましくは、脱結晶化は60°C未満の温度で行い、ケークが35～40°Cの温度に保持される場合に最適な結果が得られる。脱結晶化の間の温度が80°Cを上回ると、C₆糖の多くがその後の加水分解において失われる。本発明の方法は、加水分解工程の初期に生成したより反応性の高い糖を保存するような条件を使用する。脱結晶化段階は早過ぎる加水分解を防ぎ、従って糖類がより多く分解するのを防ぐ。

脱結晶化段階においては、多量のバイオマスと酸とを混合したときに発生する熱は、ケーク混合物の低い伝導性のために伝導によっては容易に除去することができない。しかし、減圧下の混合物からの水の除去により混合物が十分に冷却される。バイオマスの添加速度と、従って全脱結晶化工程の速度は、水を真空ポンプにより除去できる速度に直接比例する。減圧による系からの水の除去は、蒸発により熱を除去するために溶媒を添加することを必要とせず、また凝縮の後に水の中に取り込まれた少量の酸とともにその水を系に戻し、組成の正確な制御を維持し、廃棄物の生成を排除することができる。

反応器のサイズが大きくなると、表面の体積に対する比は減少する。脱結晶化

及び加水分解物質は非常に低い熱伝導性を有するので、反応器のサイズが大きくなるにつれて減圧系により除去する熱のパーセンテージはより大きくなる。ガラスで内張りした容器中で行った実験においては、ガラスの熱伝導性がより低いことにより減圧で熱のほとんど全てが除去された。また、減圧によれば表面からの熱移動よりもずっと早く反応する。

脱結晶化段階を以下の実施例1～3においてさらに説明する。

実施例 1

75重量%のセルロースとヘミセルロースを含む50.01gの稻藁を77% H₂SO₄の66.82グラムと混合した。稻藁はH₂SO₄にゆっくりと加え、それぞれの追加分を加えた後に余分な液体が生じるようにした。温度は80°C未満に保持した。稻藁の最後の量を加えた後、得られたゼラチン状の塊を完全に混合した。

実施例 2

50.04グラムの稻藁を98.91グラムの77% H₂SO₄と混合した。稻藁の小量を反応器に入れ、酸溶液を加え、残りの稻藁をゆっくりと加え、それぞれの追加分を加えた後に余分な液体が生じるようにした。混合物中に存在する水を減圧下に除去することにより温度を80°C未満に保持した。275mmHg (757.26の減圧) の最初の圧力を使用して40°Cで溶液を蒸発させた。180mmHg (580mmHgの減圧) の圧力で溶液を40°Cに冷却保持するのに十分であった。稻藁の最後の量を加えた後、得られたゼラチン状の塊を完全に混合した。

実施例 3

100.00グラムの刈り込んだ木と新聞紙の混合物を167.63グラムの77% H₂SO₄と混合した。刈り込んだ木は3～7mmの大きさに粉碎し、40グラムを約6mmの片に細断した新聞紙の60グラムと混合した。混合物をゆっくりとH₂SO₄に加え、それぞれの追加分を加えた後に余分な液体が生じるようにした。温度は、80°C未満に保持した。刈り込んだ木と新聞紙の最後の量を加えた後、得られたゼラチン状の塊を完全に混合した。

最初の加水分解

脱結晶化段階の後、混合物中の濃酸を好ましくは20%～30%の濃度に好ましくは

リサイクルした水11を使用して希釈する。これにより混合物の粘度は約150万～200万cpから約400,000cpへ低下する。その後混合物を80～100℃の間の温度に加熱し、連続的に混合して加水分解を行う12。低い毎分回転数(rpm)、約10～30rpmでの混合が好ましい。より高いrpmでの第二のミキサーは、遅い速度のミキサーの付近に物質を保持するのに有用である。

加水分解は、温度と原材料中のセルロースとヘミセルロースの濃度に依存して40～480分の間継続する。適当な時間を超えると、ヘキソース及びペントースの分解の速度がその生成の速度を超える。従って、糖の収量を増やすためには、一定の時間後に最初の加水分解を停止し、糖を分離し、セルロース及びヘミセルロースの残りを糖に変換するために2回目の加水分解を行うことが重要である。加水分解の後、好ましくはプレス15、濾過、あるいはプレス濾過により酸糖溶液を残りの固体物から分離する。

加水分解物スラリーの濾過性は、脱結晶化を行った温度に影響を受ける。脱結晶化をより低温に維持すればするほど後の加水分解産物の濾過が容易になる。脱結晶化は60℃未満で行い、ケークを35～40℃未満の温度で保持すると最適な結果が得られる。これ以上冷却すると粘度が増加し、混合物を冷却するのに必要な減圧を維持するのにコストがかかりすぎるので現実的でない。

より低い脱結晶化の温度が濾過性及び高収量に利益を与えるということは、反応器の全体で6℃以上の温度差がないように、反応器は反応物質を回転させ、それをより低い圧力にさらすように設計されなければならないことを意味している。これには多数のブレードを有するミキサーが単一のブレードのものよりも好ましい。

脱結晶化と加水分解の後に残る固体物の分離能を確保するための別の方法は、バイオマス中に存在するリグニンを適当なものとして、加水分解の後にプレス濾過を使用できるようにし糖酸溶液を分離できるようにすることである。バイオマス中に存在するリグニンが不充分であり、全てのセルロースとヘミセルロースが

糖に変換されると、溶液は非常にプレス濾過し難くなる。バイオマスが全てセルロースとヘミセルロースである場合は、糖酸溶液を直接酸糖分離ユニットに送れ

るのでプレス濾過する必要はない。しかしバイオマスが部分的に単純なセルロース及びヘミセルロースでない場合は、濾過を助けるように働くリグニンが存在することが望ましい。さらに、バイオマス中のリグニンの存在は、(1) 無機物質や酸化された糖のようなその他の物質をその上に析出させる物質の役目を果たし、(2) 燃料としての価値があり、あるいは植物栽培用の媒体や表土添加物として使用できる副産物となる、という利点を与える。

少なくとも5%のリグニン(乾燥基準で)の平均値を有するバイオマス物質の組み合わせが、濾過を可能とする十分なケーキを得るのに最も適していることが判明した。最良の濾過と最適な産物収量の最良の妥協として7%のリグニン量が好ましい。バイオマス中のリグニン量がより高くなると、濾過はより容易になるが、リグニン組成が多くなると加水分解に利用できるセルロース及びヘミセルロースの量が減ることになるので、生成する糖の量は減少する。

加水分解段階を、以下の実施例4~6においてさらに説明する。

実施例 4

実施例1で得られたゼラチン状の塊に、加水分解のために54.67グラムの水を加え、全混合物の酸濃度を30%に低下させた。試料を100°Cに60分間熱した。加熱の間にいくらかの水が蒸発した。ゼラチン状の塊をプレスして17.1%の糖と35.52%の酸を含む93グラムの液体を得た。

実施例 5

実施例2で得たゼラチン状の塊を完全に混合した後、104.56グラムの水を加え、全混合物の酸濃度を30%に低下させた。試料を100°Cに60分間加熱した。ゼラチン状の塊をプレスして16.5%の糖と34.23%の酸を含む188.9グラムの液体を得た。

実施例 6

実施例3で得たゼラチン状の塊を完全に混合した後、加水分解のための162.62グラムの水を加え、全混合物の酸濃度を30%に低下させた。試料を100°Cに60分間加熱した。加熱の間にいくらかの水が蒸発した。ゼラチン状の塊をプレスして17.6%の糖と36.85%の酸を含む214.3グラムの液体を得た。

プレスの後、固体物を含む得られたケーキを170グラムの水で洗浄し、再びフ

レスし、16.3%の酸と8.92%の糖を含む液体を得、これを以降の洗浄に使用して糖収量を増加させた。

シリカ処理

本発明は、高いシリカ含量を有する物質の処理方法を提供するという利点も有する。この方法は図3に図示する。最初の加水分解あるいは二番目の加水分解の後に残ったプレスされた固体物14を、金属水酸化物溶液、例えば5%～10%水酸化ナトリウム16により処理し、ケイ酸18を抽出することができる。好ましくは、金属水酸化物溶液は水酸化ナトリウム溶液であり、最も好ましくは約8%の濃度で使用する。時間をより長くし、温度をより高くすると、生成物のより高い収量が得られる。しかし、多くのバイオマス物質についてはより低い条件で理論的な回収率の95%を超える収率でシリカを生産するのが適当である。

本方法のこの段階は任意のものであり、バイオマスが高含量のシリカを含む場合、例えば稻藁や綿織り機くずのようなものに使用される。金属水酸化物溶液16による処理の後、固体物を最初に約60℃～80℃に約60～90分間加熱し16A、その後プレス濾過し17、水で洗浄して液体18を抽出する。この液体を酸19Aで処理してpHを低下させ、沈殿を形成し21、これを好ましくは濾過22により分離する。使用される酸は、硫酸、塩酸、フッ化水素酸、あるいはリン酸とすることができる。フィルター中の物質を漂白して19B実質的に純粋のシリカゲルである物質を生成する。酸化剤は、次亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、オゾン、塩素、あるいは二酸化塩素とすることができます。このシリカゲルをさらに処理してケイ酸ナトリウム、ケイ酸カリウム、あるいはその他の有用な物質を生産することができる。例えば、シリカをアルミニウム塩、好ましくは硫酸アルミニウムと

混合して洗浄し、乾燥してゼオライトを形成することができる。製造されるゼオライトあるいはシリカの種類は、加えられるアルミニウム塩の量と処理の結果としてシリカ中に存在する不純物によって制御される。ゼオライトを生産するためには使用されるその他の方法においては、少量の有機物を添加して最終的な結晶構造において化学物質を吸着するために利用できる部位である「面積」を増加させることができる。本発明の方法においては、加水分解の後のバイオマス中に存在

する通常の不純物が無機物質として働き、非常に高い表面積の物質を生成する。例えば、添加されたアルミニウム塩を使用する公知の方法によって製造されたゼオライトは17~19ミクロンの粒子で $150\text{m}^2/\text{gm}$ の窒素吸収に対するBrunauer-Emmet-Teller(BET)表面積を有する。本発明の方法を使用することによって、アルミニウム塩を添加することなくこのようないレベルが得られ、アルミニウム塩を使用すると $300\sim325\text{m}^2/\text{gm}$ の窒素吸収値が得られる。

硫酸を使用してセルロース物質とヘミセルロース物質を加水分解する場合、金属水酸化物溶液として水酸化ナトリウム溶液を使用してケイ酸を抽出することが好ましい。水酸化ナトリウムを使用したシリカの抽出によりケイ酸ナトリウム溶液が形成され、これは濾過し、ケークにプレスし、その後硫酸との反応によりシリカに変換する。硫酸との反応は、所望のシリカ生成物を形成するが、硫酸ナトリウム流も形成する。この流れは、硫酸ナトリウムを硫酸カルシウムに変換して水酸化ナトリウムの多くを再生するのに必要な石灰(水酸化カルシウム)の化学量論量の約70%で処理する。より多い量の石灰を使用しても回収水酸化ナトリウムの収量は有意に改善されない。

残りの硫酸ナトリウムの部分を含む約5%水酸化ナトリウムのその後にリサイクルされた流れは十分にシリカ抽出工程を継続でき、残りの硫酸ナトリウムは阻害しない。最初あるいは二番目の加水分解の後に残ったプレスされた固形物の5%~10%の水酸化ナトリウムでの次の処理及びその後の処理にはリサイクルされた硫酸ナトリウム-水酸化ナトリウム溶液を使用することができる。

水酸化ナトリウムの回収から生成された硫酸カルシウム(石膏)産物は、糖生成物中和段階からの硫酸カルシウムと合わせて農業用グレードの石膏を生成することができる。

実施例7~10によりシリカの抽出をさらに説明する。

実施例7

上記実施例1において形成された稻藁加水分解ケークの、糖加水分解物をプレスにより分離した後の499.75グラムを、659.8グラムの5%NaOH溶液で処理した。

混合物を90分間80°Cに加熱した。ケークをプレスして水で洗浄した。抽出された

全液体は12を上回るpHを有していた。液体を濃塩酸で処理してpHを10に低下させた。形成された軽い綿毛状の沈殿物を濾過によって分離した。NaOClの11%溶液を添加することにより物質をフィルター中で漂白し、実質的に純粋なシリカゲルである灰白色の物質を生成した。フィルターからの物質を乾燥して所望の水分レベルとし、シリカとして回収した。

実施例8

実施例7の方法によって製造されたフィルターークシリカゲルをNaOHペレットで処理してケイ酸ナトリウムを生成した。FT-IR分光分析によるケイ酸ナトリウム溶液の分析により、ケークからのシリカの回収率は85%を超えることが示された。

実施例9

実施例7の方法によって製造されたフィルターークシリカゲルを、KOHペレットで処理して定量的な収量でケイ酸カリウムを生成した。

実施例10

上記した脱結晶化と加水分解の結果形成された稻藁加水分解ケークの、糖加水分解物をプレスして押し出した後の重量206ポンドを352ポンドの5% NaOH溶液で抽出した。この混合物を濾過して155ポンドのケークを生成し、これは燃焼するか土壤堆肥として使用される。固形物を除く濾過の後、ケイ酸ナトリウムを含む403ポンドの液体が残った。27ポンドの硫酸の70%溶液を前記液体に加えてシリカを沈殿させ、次いでこれを濾過し、44ポンドの水と混合した34ポンドのシリカを生成した。このシリカを10ポンドの過酸化水素で洗浄して漂白した。濾過の後に396ポンドの液体が残り、この液体は29ポンドの硫酸ナトリウムを含んでいた。この液体に10ポンドの石灰を加え、得られた溶液を攪拌した。数分後、73ポンドの硫酸カルシウムを溶液から濾取した。残った液体はNaOHとNa₂SO₄の混合物であり、これはリサイクルして次の抽出工程に使用した。

54ポンドの水中の上記したように抽出したシリカの34ポンドを0.4ポンドの硫酸アルミニウムでスラリー化した。混合物を水で洗浄し、乾燥して34.4ポンドのゼオライトを生成した。

第二の脱結晶化及び加水分解

本発明の方法を使用して得られる糖収率を高めるため、本発明のさらに別の形態は任意の第二の脱結晶化及び第二の加水分解を使用する。第二の脱結晶化段階は殆どの場合不要であるが、木材のようなかさばった物質について、最初の脱結晶化段階でセルロース及びヘミセルロース物質を適当に脱結晶化できなかつた場合に第二の脱結晶化段階を行う。

最初の加水分解の後に残る固形物、あるいは水酸化ナトリウムで処理してシリカを抽出した後に残る固形物を乾燥する23。必要な場合には、乾燥した固形物24を25%～90%の濃度の濃硫酸25と混合して第二の脱結晶化を行う。好ましくは、酸の濃度は70%～77%の間である。最初の脱結晶化と同じ長さの時間、物質を保持する必要はない。実際には、この第二の脱結晶化は酸と固形物とを混合するのにかかる数分程度の短さでよい。この第二の脱結晶化も粘稠なゲル26を形成する。

その後濃酸を、好ましくは20%～30%の濃度に、好ましくはリサイクルされた水27を用いて希釈する。その後、混合物を加熱して第二の加水分解を行う。あるいは、第二の脱結晶化が不要な場合においては、最初の加水分解の後あるいはシリカを抽出する処理の後に残った固形物を20～30%の酸で処理し、加熱して第二の加水分解を行う。得られるゲル28をプレスするか濾過することにより第二の酸糖流30を得、2回の加水分解段階からの流れを合わせる。残ったリグニンを豊富に含む固形物を回収し、任意に燃料29としてペレット化するか、原材料

として使用する。リグニンを豊富に含むケーキのペレット化は、本発明の方法によって生成される廃棄物を減らすことに役立つので有利である。

タンパク質型の物質が、原材料として本発明の方法において使用される農業用あるいは廃棄物物質の一部として含まれていてもよい。硫酸を使用して窒素をアンモニアとして放出させることによりタンパク質及びアミノ酸窒素が分析されているが（いわゆるKjeldahl法）、本方法における草あるいはその他の植物物質中のタンパク質からのアンモニアの放出は示されていない。これにより窒素を失うことなくタンパク質を含む産物を使用することができる。タンパク質及びアミノ酸窒素は依然として利用でき、例えば加水分解の後に残るケーキを土質改良剤と

して使用した場合、天然の窒素肥料として利用できる。さらに、窒素は動物飼料添加物としてのリグニンを豊富に含むケーキに付加的な価値を与える。

第二の脱結晶化及び加水分解段階を以下の実施例11及び12においてさらに説明する。

実施例 11

稻藁の最初の加水分解の後にプレスにより形成されたケーキを集め、10%の水分含量に乾燥した。41%のセルロースを含む50.03グラムの重さのケーキを33.28グラムの77% H_2SO_4 と混合し、1.25対1の純粹な酸のセルロースに対する比率を得た。ケーキをゆっくりと酸に加え、粘稠なゲルが形成されるまで混合した。得られた混合物中の純粹な酸の濃度は30.75%で、17.00グラムの水を加えて25.5%の最終的な純粹な酸の濃度を得た。その後混合物を100°Cで50分加熱した。冷却した後、ゲルをプレスして18.2%の糖と21.1%の酸を含む31.45グラムの液体を回収した。プレスの後残った固形物を含むケーキを25グラムの水で洗浄し、15.4%の糖と19.7%の酸を含む溶液を生成した。

プレスしたケーキを乾燥して約10%の水分含量とした。このケーキは、ポンドあたり8,600BTUの燃料価を有することが判った。この燃料物質は主として、回収されなかった糖、いくらかの糖分解産物、及びいくらかの未反応セルロースを含むリグニンであり、非常によく燃えたが約7%のシリカを含む灰分が残った。

実施例 12

実施例7で説明したようにシリカの除去処理の後に残る500グラムの重さの稻藁加水分解ケーキを77%の H_2SO_4 と混合し、1.25対1の純粹な酸のセルロースに対する比率を得た。ケーキをゆっくりと酸に加え、粘稠なゲルが形成されるまで混合した。その後水を加え、25.5%の最終的な純粹な酸の濃度を得た。そして混合物を100°Cで50分加熱した。冷却した後にゲルをプレスし、糖と酸の両方を含む液体を回収した。プレスの後に残った固形物を含むケーキを水で洗浄し、糖と酸の両方を含む第二の溶液を生成した。

プレスしたケーキを乾燥して約10%の水分含量とした。このケーキは、ポンドあたり8,600BTUの燃料価を有することが判った。この燃料物質は主として、回収

されなかつた糖、いくらかの糖分解産物、及びいくらかの未反応セルロースを含むリグニンであり、非常によく燃え、約1%のシリカを含む灰分を残した。

酸及び糖の分離

本発明の別の態様は、セルロース及びヘミセルロース物質の酸加水分解から生成された加水分解物中の酸及び糖を分離するための改良された方法に関する。図2を参照すると、酸糖流31は、強酸ポリスチレン-ジビニルベンゼン樹脂床を含む分離ユニットによりさらに処理される。この樹脂は好ましくは6%～8%の濃度のジビニルベンゼンで架橋されており、少なくとも2meq/gの強酸容量を有するよう硫酸で処理されたものであることが好ましい。いくつかのそのような樹脂が市販されており、Dow Chemicalから入手できるDOWEX 40166、Finex、フィンランドから入手できるFinex GS-16、Purolite Inc.、Bala Cynwyd PAから入手できるPurolite PCR-771、Rohm and Haasから入手できるIR-118等がある。特に好ましい態様においては、使用される樹脂はDow Chemicalから入手できるDOW XFS 43281.01である。樹脂は好ましくは200～500マイクロメーターの直徑を有するビーズの形態にある。樹脂床の流速は好ましくは時間あたり2～5メートルであり、床は好ましくは0.6～0.9g/mlのタップ床密度を有する。樹脂床を好ましくは40～60°Cの温度に加熱する。より高い温度を使用することができるが、樹脂床の早すぎる分解が生じ得る。より低い温度は有効ではない分離を生じ

得る。

酸溶液がカラム中を移動するにつれて糖がそれに吸着される32。酸が溶出したら、任意に、実質的に酸素を含まない、好ましくは溶存酸素が0.1ppm未満のガスで樹脂をバージすることができる。このガスは残っている酸を全て樹脂から追い出す働きを果たし、より優れた分離ができる。

酸流の溶出の後、実質的に酸素を含まない水34で樹脂を洗浄する。この水の溶存酸素含量は、好ましくは0.5ppm未満であり、より好ましくは0.1ppm未満である。この洗浄により、分離ユニットに加えられた加水分解物中の糖の少なくとも98%を含む糖流33が生成される。

分離工程の結果、酸流、糖流、及び第二の分離工程を通してリサイクルされる

混合酸糖流の3つの流れが回収される。酸流32は再濃縮され、再使用するためにリサイクルされるが、これは以下でさらに説明する。好ましくは少なくとも15%の糖と3%以下の酸を含む糖流33は、その後所望により発酵させることができる。糖の純度は糖流の非水性成分のパーセンテージとして計算できる。従って、83.3%($100 \times 15/18$)を超える糖の純度が発酵に適している。

糖流中に3%までの濃度の酸が含まれていても以後の処理において問題はない。しかし、分離の際に糖の有意な比率が酸により失われると、工程全体の経済性が低下する。

例として理想的な分離方法においては、100グラムの水を使用して分離カラムからの30グラムの酸、15グラムの糖、55グラムの水を含む100グラムの試料溶液を溶出する。完全な分離の場合は、糖流は15グラムの糖と85グラムの水を含む。これは当初の溶液と同じ濃度、30%における酸の回収について30グラムの酸と70グラム($100 + 55 - 85$)の水を残すことになる。

しかし、上記の100グラムの試料溶液の典型的な溶出は、約200グラムの水をカラムに加えることを必要とする。糖流は依然として15%であるが、但しこの場合酸流は170グラム($200 + 55 - 85$)の水と30グラムの酸を含み、15%の酸濃度となる。従って、酸流が15%の酸濃度を有する95%純度であるとすると、約1.5グラムの糖がそれぞれの溶出で酸により失なわれる。糖流が15%の濃度で95%純度であるとすると、それぞれの溶出で0.75グラムだけの酸が失なわれる。この相

違は、酸流が二倍多い物質を含むという事実によるものである。従って、酸流の純度は糖流の純度よりより重要な因子である。

酸と糖の分離を、以下の実施例13～20においてさらに説明する。

実施例13

セルロース及びヘミセルロース物質の加水分解により生成された酸糖流を、Purolite, Inc. から入手できる強酸カチオン交換樹脂であるPCR-771を充填した1.2リットル容量の50cmの直径のガラスカラム中に流すことにより分離した。カラムを60°Cに保持し、体積流量は70ml/分とした。これは約0.8メートル毎時の線流速に換算される。酸流、糖流、及び別の樹脂床にリサイクルされる混合流の3つの

流れを回収した。酸流は96.8%純度（酸と水の合計）であった。糖流は86.8%純度（糖と水の合計）であった。全体として酸の回収率は97.3%であり、糖の回収率は95.5%であった。

実施例 14

セルロース及びヘミセルロース物質の加水分解により生成された加水分解物液体の一部を、Purolite, Inc. から入手できる強酸カチオン交換樹脂であるPCR-771を充填した1.2リットル容量の50cmの直径のガラスカラム中に流すことにより分離した。カラムを40°Cに保持し、体積流量は70ml/分とした。酸流、糖流、及び別の樹脂床にリサイクルされる混合流の3つの流れを回収した。酸流は95.1%純度（酸と水の合計）であった。糖流は93.1%純度（糖と水の合計）であった。全体として酸の回収は98.6%であり、糖の回収率は90.6%であった。

実施例 15

34.23%のH₂SO₄及び16.5%の糖を含む加水分解液を、Purolite, Inc. から入手できる強酸カチオン交換樹脂であるPCR-771を充填した1.2リットル容量の50cmガラスカラム中に流すことにより分離した。カラムを60°Cに保持し、体積流量は70ml/分とした。酸流、糖流、及び別の樹脂床にリサイクルされる混合流の3つの流れを回収した。酸流は96.47%純度（酸と水の合計）であった。糖流

は92.73%純度（糖と水の合計）であった。全体として酸の回収は97.9%であり、糖の回収率は95.0%であった。

実施例 16

新聞紙の加水分解により生成された加水分解物液は、31.56%の酸と22.97%の糖を含んでいた。この液体を、Purolite, Inc. から入手できる強酸カチオン交換樹脂であるPCR-771を充填した1.2リットル容量の50cmガラスカラム中に流すことにより分離した。カラムを40°Cに保持し、体積流量は70ml/分とした。酸流、糖流、及び別の樹脂床にリサイクルされる混合流の3つの流れを回収した。酸流は96.7%純度（酸と水の合計）であった。糖流は90.9%純度（糖と水の合計）であった。全体として酸の回収は99.5%であり、糖の回収率は96.7%であった。

実施例 17

新聞紙の加水分解により生成された加水分解物液は、31.56%の酸と22.97%の糖を含んでいた。この液体の一部を、Finex、フィンランドから入手できる強酸カルチオン交換樹脂であるFinex GS-16を充填した1.2リットル容量の50cmガラスカラム中に流すことにより分離した。カラムを60°Cに保持し、体積流量は70ml/分とした。前記液体の第二の部分を同様にFinex GS-16を充填した1.2リットル容量の50cmガラスカラム中に流すことにより分離した。このカラムは40°Cに保持し、体積流量は70ml/分とした。いずれの場合も、酸流、糖流、及び別の樹脂床にリサイクルされる混合流の3つの流れを回収した。酸流は少なくとも90%純度（酸と水の合計）であった。糖流は少なくとも94%純度（糖と水の合計）であった。

実施例 18

15%の糖と30%の酸を含む加水分解物を、Dow Chemicalから入手できるDOW XFS 43281.01を充填した1.2リットル容量の50cmガラスカラムを使用して分離した。カラムを60°Cに保持し、体積流量は65ml/分とした。加水分解物を添

加した後、カラムを沸騰蒸留水及び冷却蒸留水で溶出した。酸流は97.0%純度であり、糖流は97.2%純度であった。樹脂上の酸及び水相の間の膨潤量は2.48%であった。

同じ加水分解物をカラムに2回目に添加した後、溶出を行い、実質的に全ての酸と糖を回収し、99.1%を超える回収率と、97.2%の糖純度及び92.3%の酸純度を得た。分離の間の溶出速度は65ml/分であった。

実施例 19

Advanced Separation Technologies, Inc.により製造されたAST LC1000回転樹脂床装置を使用して糖-酸混合物を分離した。装置は、樹脂の20カラムからなり、各カラムは2リットルの床容量を有していた。カラムを60°Cに保持したFinex GS-16樹脂で充填した。8時間の1回のランにおいて、供給物は14.89%の糖及び23.79%の酸を含んでいた。溶出速度は244ml/分とし、これは0.12ml/分または7.3ml/時間の線速度に対応する。糖生成物純度は94.6%であり、酸生成物純度は92.4%であった。糖回収率は84%であり、13.9%の濃度であった。酸の回収率は97.5%であり、濃度は7.5%であった。

実施例 20

Advanced Separation Technologies, Inc. により製造された15.2リットルの全床容量を有するAST LC1000回転樹脂床装置を使用して糖-酸混合物を分離した。カラムをPurolite PCR-771で充填した。供給物は12.6%の糖及び18.9%の酸を含んでいた。溶出速度は117ml/分とした。カラムを60°Cで運転したとき、回収された流れの糖純度は92.4%であり、酸純度は92.1%であった。

糖混合物の分析において、本発明の方法により生成された糖の分布が極めて一定であり、主として5種類のC₅またはC₆单糖からなることが判明し、この方法を使用して生成した二量体、三量体あるいはその他の短鎖重合体糖の証拠は見られない。さらに、例えばトリメチルアリルエステルのガスクロマトグラフィーにより、C₆糖にキシリトールが存在することが示されている。キシリトールはキシ

ロースの還元形態であり、微生物にはより利用しやすいものである。

酸の濃縮とリサイクル

分離ユニットから回収された酸溶液32は、濃縮し、本発明の方法のより前の段階で再使用するためにリサイクルすることができる。標準的な單一段階蒸発器36を使用して最高35%までの酸の濃度が得られる。例えばChemetics, Toronto, Ontario, Canadaから入手できる三倍効率蒸発器(triple effect evaporator)を好ましく使用でき、これにより70~77%のより高い濃度が得られる。濃縮器に回収された水35は、樹脂分離器ユニットにおいて溶出水として使用することができる。

発酵

本発明のまた別の態様は、セルロース及びヘミセルロース物質の酸加水分解の後に分離された糖流を発酵させるための改善された方法を包含する。糖流はヘキソース及びペントースの両方の糖を含む。これらの糖は任意に、天然の微生物を使用して同時に発酵させることができる。これにより糖を分離し、あるいはそれらを順次発酵する必要が回避されるので有利である。

酸加水分解の後に分離ユニットから回収された糖溶液33は、依然として残留量の酸を含み得る。この酸はまず、好ましくは消石灰で10~12のpHに中和しなければならない37。この高いpHは、以降の処理を妨害し得る金属イオンの全ての痕跡

を除去するので有利である。そして溶液を酸で約4.5のpHに逆滴定する。その後マグネシウム、窒素、リン酸カリウム、及びビタミン等の栄養素40を加え、微生物の増殖を促進する。さらに、グルコースオキシダーゼを発酵物に加えてキロースのエタノールへの転換工程を促進することができる。

本発明の一つの重要な特徴は、所望の場合にC₆及びC₅両方の糖39を一緒に醸酵できることである。我々は、一定の方法で培養された一定の酵母43がこの二重醸酵に有用であることを見出した。我々は、中でもCandida kefyr、C. shehatae、C. lignosa及びC. insectosa、Pichia stipitis及びSaccharomyces cerevisiaeの呼吸能欠損株が、混合糖で使用する前に予めペントース溶液で1～

2週間増殖させておけば25～32°Cでよく作用することを見出した。

ヘキソースを別に発酵させてペントースを別の目的のために回収することが望まれる場合は、Saccharomyces cerevisiae及びKluveromyces marxianusのような公知のグルコース酵母を使用することができる。ある種の細菌も有用な醸酵産物を生成し、本発明の方法に使用することができる。細菌としては、Clostridium種及びZymomonas mobilisが挙げられる。

酵母あるいは細菌による発酵がエタノールあるいはその他の揮発性の産物の抑制効果のために速度低下を起こす場合は、冷却された凝縮カラムを通して醸酵により生成された二酸化炭素をリサイクルし、その二酸化炭素を醸酵槽に再導入することにより、そのような揮発性の醸酵産物を連続的に除去することができる。いくらかの水とともに揮発成分はカラムで凝縮し、さらに精製するために回収することができる。この方法は、非常に活発な発酵に必要となる発酵槽の冷却という有利な効果も有する。

約3～5日かかる醸酵が終了した後、好ましくは遠心分離41により、醸酵産物と微生物とを分離する。微生物43は糖の次のバッチにリサイクルできる。アルコール溶液44は、さらに処理するために蒸留塔46に送ることができる。

醸酵の好ましい方法を以下の実施例21～22でさらに説明する。

実施例 21

数回のランにより樹脂分離カラムから得られた糖溶液を合わせてCa(OH)₂でpH1

0～11に中和した。溶液を濾過してCaSO₄（石膏）と透明な黄色がかった糖液体とを分離した。濃リン酸と硫酸との組み合わせを使用して糖液体のpHをpH4.5に調整した。リン酸を最初に加えて0.3g/lのH₃PO₄を与えた。その際、溶液が高pHのためにまだ滅菌状態である中和の前に、栄養素を加えた。栄養素は0.07g/lのMgSO₄、0.2g/lのKNO₃、0.5g/lの尿素、1.0g/lの酵母エキス、0.1mg/lのFeNaEDTA、0.01mg/lのH₃BO₃、0.04mg/lのMnSO₄・H₂O、0.02mg/lのZnSO₄・7H₂O、0.003mg/lのKI、1μg/lのNa₂MoO₄・2H₂O、0.1μg/lのCuSO₄・5H₂O及び0.1μg/lのCoCl₂・6H₂Oを含むものであった。

その後、5%キシロース培地で予め増殖させたCandida kefyr(ATCC 8619)、

Pichia stipitis(NRRL Y-7124)、*Hansenula anomala*(ATCC 42398)、*Hansenula anomala*(ATCC 8168)、*Hansenula fabianii*(ATCC 16755)、*Hansenula jadinii*(ATCC 18201)、あるいは*Saccharomyces cerevisiae*の呼吸能欠損株を含む発酵槽に溶液を供給した。発酵槽中の酵母「クリーム」は、2リットル発酵槽容量の約100ml中に少なくとも20グラムの酵母を含む。溶液の約200mlを加える。添加を3日間、毎日繰り返した。酵母は溶液中のC₆及びC₅糖の両方を発酵させた。

実施例22

樹脂カラムから得られた糖溶液を合わせてCa(OH)₂でpH10～11に中和した。溶液を濾過してCaSO₄（石膏）と透明な黄色がかった糖液体とを分離した。濃リン酸と硫酸との組み合わせを使用して糖液体のpHをpH4.5に調整した。リン酸を最初に加えて0.35g/lのH₃PO₄を与えた。溶液が高pHのためにまだ滅菌状態である中和の前に栄養素を加えた。栄養素は0.07g/lのMgSO₄、0.2g/lのKNO₃、1.0g/lの(NH₄)₂SO₄、1.0g/lの酵母エキス、5.0mg/lのFeSO₄、1.0mg/lのH₃BO₃、5.0mg/lのMnSO₄・2H₂O、10μg/lのCuSO₄・4H₂O、20μg/lのCoCl₂・6H₂O、10μg/lのビオチン、0.25mg/lのピリドキシンHCl、1.5mg/lのi-イノシトール、2.0mg/lのパントテン酸Ca、5.0mg/lのチアミンHCl及び25mg/lのペプトンを含むものであった。

その後、5%キシロース培地で予め増殖させたCandida kefyr(ATCC 8619)、*Pichia stipitis*(NRRL Y-7124)、*Hansenula anomala*(ATCC 42398)、*Hansenula anomala*(ATCC 8168)、*Hansenula fabianii*(ATCC 16755)、*Hansenula jadinii*(ATCC 18

201)、あるいは *Saccharomyces cerevisiae* の呼吸能欠損株を含む発酵槽に溶液を供給した。少なくとも20グラムの酵母を含むと見積もられる酵母「クリーム」は、2リットル発酵槽容量の約100mlを占めた。溶液の約200mlを加える。添加を3日間、各日繰り返した。酵母は溶液中のC₆及びC₅糖の両方を発酵させた。

所望の場合は培地へのH₃BO₃の添加は除外してもよい。酵母ではなく細菌を醸酵に使用した場合は、ホウ素が細菌に対して有毒なのでH₃BO₃を培地に加えてはならない。

本発明を説明し記載するのにいくつかの実施例を使用したが、本発明の範囲は本明細書に記載した特定の実施例に限定されるものではない。従って、本発明の範囲は添付する請求の範囲によってのみ規定されるものである。

【 図 1 】

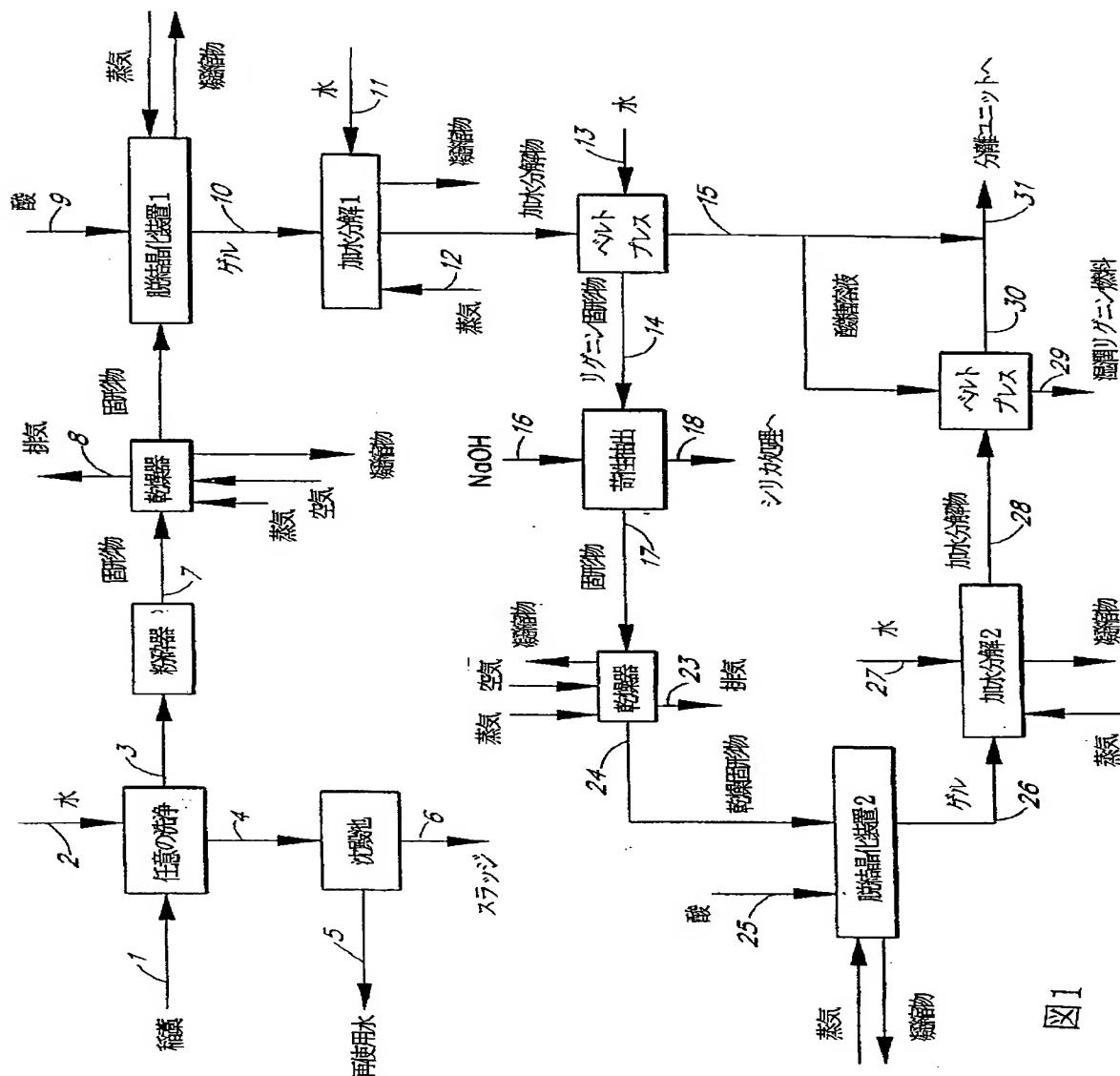
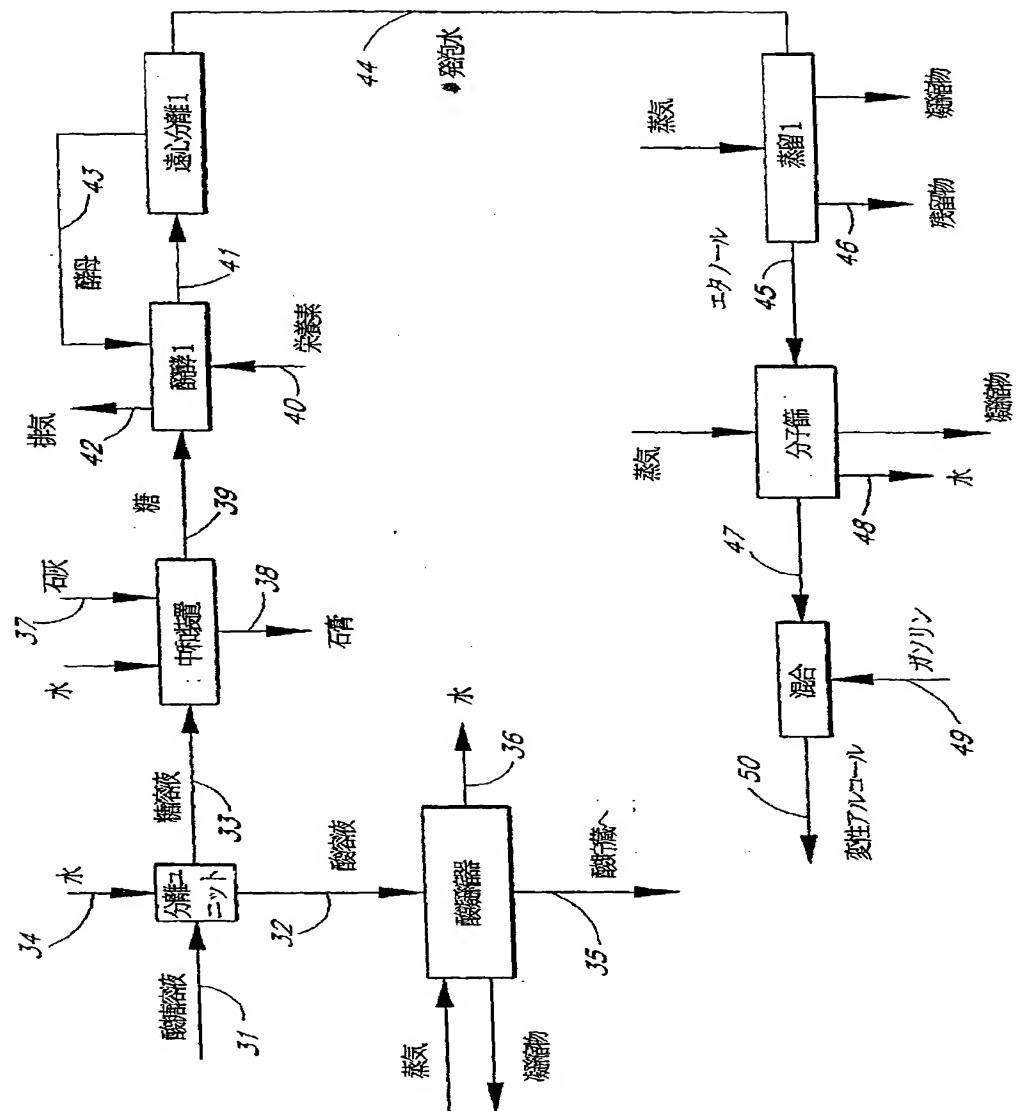


図1

【 図 2 】



2

【図 3】

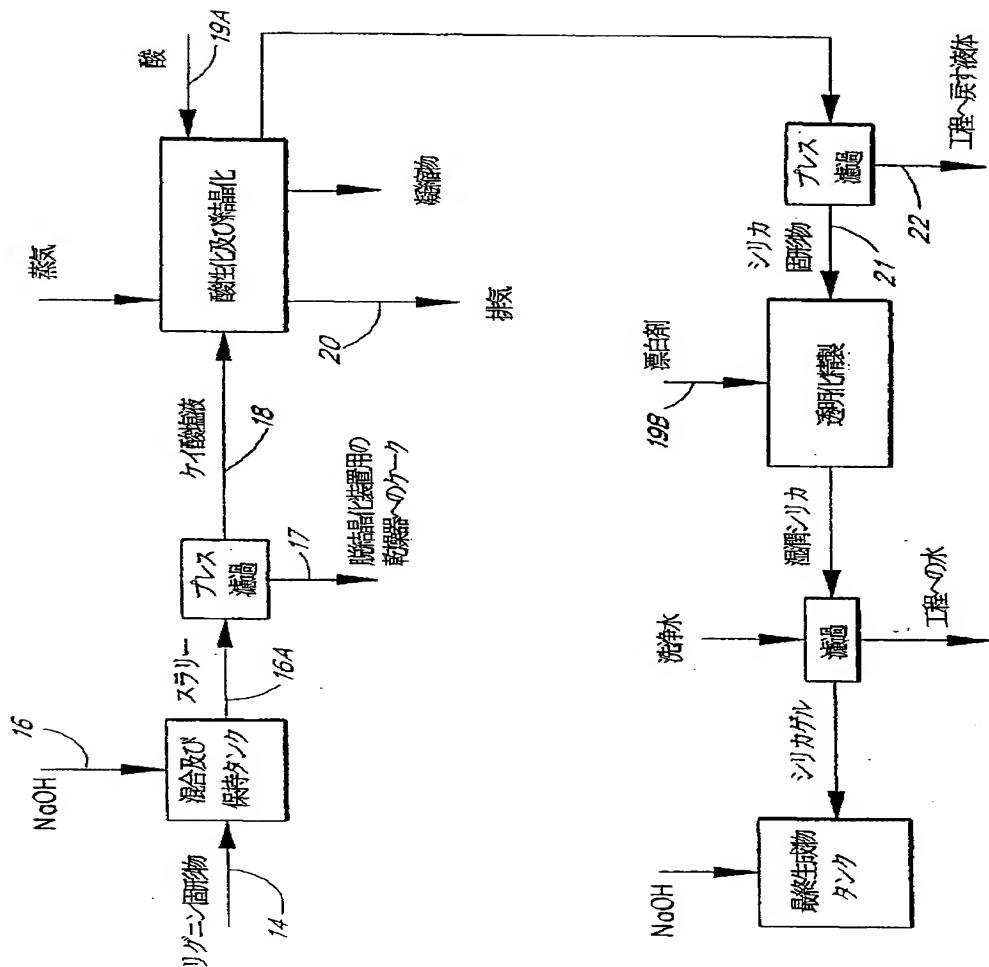
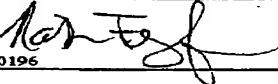


図3

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/08719

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER																								
IPC(b) : Please See Extra Sheet. US CL : Please See Extra Sheet. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																								
B. FIELDS SEARCHED																								
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : Please See Extra Sheet.																								
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Please See Extra Sheet.																								
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Extra Sheet.																								
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT																								
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																						
A	US 4,427,584 A (F. LEGRAND ET AL.) 24 January 1984 (24.01.84).	1-72																						
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.																								
<table border="0"> <tr> <td>* Special categories of cited documents:</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"A"</td> <td>document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"T"</td> <td>later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"L"</td> <td>earlier document published on or after the international filing date</td> <td>"X"</td> <td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"E"</td> <td>document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"Y"</td> <td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"O"</td> <td>document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"&"</td> <td>document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P"</td> <td>document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents:		"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"L"	earlier document published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"E"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family	"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
* Special categories of cited documents:																								
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention																					
"L"	earlier document published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone																					
"E"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art																					
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family																					
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																							
Date of the actual completion of the international search 22 AUGUST 1996	Date of mailing of the international search report 04 SEP 1996																							
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer FRANCISCO C. PRATS  Telephone No. (703) 308-0196																							

Form PCT/ISA/210 (second sheet)(July 1992)*

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/08719**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:**
IPC (6):

C12P 19/14

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:
US CL :

435/99, 100, 105, 803; 210/665, 673; 536/1.1, 124, 127; 127/1, 36, 37, 46.2, 46.3

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched

Classification System: U.S.

435/99, 100, 105, 803; 210/665, 673; 536/1.1, 124, 127; 127/1, 36, 37, 46.2, 46.3

B. FIELDS SEARCHED

Documentation other than minimum documentation that are included in the fields searched:

none

B. FIELDS SEARCHED

Electronic data bases consulted (Name of data base and where practicable terms used):

none

フロントページの続き

(81) 指定国 E P (A T, B E, C H, D E,
D K, E S, F I, F R, G B, G R, I E, I T, L
U, M C, N L, P T, S E), O A (B F, B J, C F
, C G, C I, C M, G A, G N, M L, M R, N E,
S N, T D, T G), A P (K E, L S, M W, S D, S
Z, U G), U A (A M, A Z, B Y, K G, K Z, M D
, R U, T J, T M), A L, A M, A T, A U, A Z
, B B, B G, B R, B Y, C A, C H, C N, C Z,
D E, D K, E E, E S, F I, G B, G E, H U, I
S, J P, K E, K G, K P, K R, K Z, L K, L R
, L S, L T, L U, L V, M D, M G, M K, M N,
M W, M X, N O, N Z, P L, P T, R O, R U, S
D, S E, S G, S I, S K, T J, T M, T R, T T
, U A, U G, U Z, V N